Aus der medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. W. Seitz

Die lipolytische Aktivität im Plasma nach subcutaner und intravenöser Injektion von hohen Dosen Heparin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Otto Ladenburger
aus Heimatsmühle

München 1972

Aus der medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. W. Seitz

Die lipolytische Aktivität im Plasma nach subcutaner und intravenöser Injektion von hohen Dosen Heparin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Otto Ladenburger
aus Heimatsmühle

München 1972

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München.

Referent: Prof. Dr. N. Zöllner

Korreferent: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

7. März 1972

UNIV. LEIDEN BIBL.

M E I N E N E L T E R N

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Einleitung	7
II	Problemstellung	14
III	Methodik	15
IIIa	Bemerkungen und Kritik der Methode	18
IV	Eigene Untersuchungen	18
V	Ergebnisse	19
VI	Diskussion	23
VII	Zusammenfassung	32
VIII	Literaturverzeichnis	34
IX	Tabellen	42
X	Abbildungen	46
XI	Lebenslauf	54

I EINLEITUNG

Seit Hahn (1) im Experiment an Hunden zufällig entdeckt hatte, daß lipämisches Plasma durch Heparininjektion in kurzer Zeit geklärt wurde, hat die Forschung auf diesem Gebiet des Fettstoffwechsels nicht mehr aufgehört. Man nannte dieses Phänomen, welches genauso beim Menschen zu sehen ist (86), nach dem optisch sichtbaren Vorgang einer Klärung lipämischen Plasmas, "Klärung", die Substanz, welche diesen Vorgang bewirkt, "Klärfaktor". Dieser Klärfaktor konnte nach jeder Heparininjektion im Plasma des Patienten nachgewiesen werden, sei es durch die beschleunigte Lipämieklärung in vivo, sei es durch die Klärung lipämischen Plasmas in vitro. Diese Klärung lipämischen Plasmas gelingt nicht, wenn man Heparin in vitro zusetzt. Der Klärfaktor ist also nicht identisch mit Heparin, sondern seine Aktivität kann sich im Blut erst nach Heparinapplikation in vivo entfalten.

Bei der Klärung durch den Klärfaktor kommt es zu einer feineren Dispersion der Lipoide im Plasma: aus leichten Lipoproteinen (Chylomikronen mit wenig Eiweiß an der Oberfläche) entstehen unter Heparinwirkung (88) schwere Aggregate (durch größeren Eiweißgehalt). Durch Injektion von Protaminsulfat, dem Antagonisten von Heparin, treten wieder Chylomikronen auf; die Reaktion ist also umkehrbar.

Erst nach der eigentlichen Klärung kommt es nach Auffassung von Zöllner (76) durch Einwirkung der Lipoproteinlipase auf die Lipoproteine zur Bildung von Glycerin und freien Fettsäuren. Korn (7) hat diese Lipoproteinlipase charakterisiert als Enzym, welches durch Heparin und andere Stoffe aktiviert werden kann, und welches die Neutralfette des Blutes in Glycerin

und freie Fettsäuren spaltet. Hinsichtlich seiner chemischen Eigenschaften gelang eine Charakterisierung und Differenzierung (6). Sie wird durch Erhitzen über 60° C. zerstört, ebenso durch Einwirkung hoher Salzkonzentrationen. Sie ist nicht dialysierbar, folglich handelt es sich um ein Protein. Sie wandert in der Elektrophorese mit den α_1-Globulinen. Das Wirkungsoptimum liegt bei einer Temperatur von 40° C. und einen pH von 7,3 bis 7,5, gereinigte Präparate haben einen pH von 8,5. Das Enzym wird gehemmt durch Protaminsulfat, Triton, Salzkonzentrationen und auch Heparin in hoher Konzentration. Damit ist eine hochspezifische Charakterisierung und Differenzierung gegen alle anderen Lipasen möglich.

Die Rolle des Heparins im Fermentmolekül, ob Coferment oder nur induzierender Faktor der Lipoproteinlipase, ist bisher unklar. Robinson (4) läßt diese Frage offen. Schöll und Schettler (2), ebenso Payza, Eiber und Danishefsky (8) führen gegen die Coenzymnatur des Heparins an, daß auch andere Stoffe als Heparin, mit anderer chemischer Zusammensetzung, eine fermentaktivierende Wirkung haben, während für ein Coferment eine hohe Spezifität gefordert wird. Wegen dieser Tatsache, daß die Lipoproteinlipase durch mehrere Stoffe aktiviert und gehemmt werden kann, ist es fraglich, ob es sich um ein einheitliches Enzym handelt. Forschungen aus unserer Zeit konnten bereits zwischen mehreren lipolytischen Enzymen differenzieren (92, 74). Für die lipolytische Aktivität sind nach Vogel (9) mehr als ein Enzym einschließlich einer Phospholipase (5) verantwortlich.

Mit einer weiteren Verfeinerung und Vervollkommnung der Methoden in den nächsten Jahren ist auch eine weitere Aufspaltung der lipolytischen Enzyme zu erwarten. Wenn im folgenden die Bezeichnung Lipoproteinlipase verwendet wird, so soll diese als Dachbegriff für das ganze Enzymsystem verstanden werden.

1) Die physiologische Bedeutung der Lipoproteinlipase.

Die hohe lipolytische Aktivität nach exogenem Heparin stellt eine starke Übertreibung der physiologischen Aktivierung dar. Erst mit der Verbesserung und Verfeinerung der Untersuchungsmethoden konnte auch eine endogene lipolytische Aktivität ("Spontanaktivität") nachgewiesen werden (3, 11-13). Sie ist jedoch gering. Ein Parameter für die Höhe der Spontanaktivität ist nach Sailer der Neutralfettspiegel des Blutes (11, 14).

Wie hoch bei der Spontanaktivität der Anteil der durch endogenes Heparin induzierten Lipoproteinlipase ist, kann noch nicht gesagt werden. Die Tatsache, daß bei postprandialer Lipämie eine Degranulierung der Blutbasophilen (3, 15), und damit eine Ausschüttung endogenen Heparins erfolgt, spricht für die Rolle des Heparins. Wenn Protaminsulfat als Antagonist des Heparins nicht nur im in vitro- Test die lipolytische Aktivität verringert, sondern auch nach Injektion die Spontanaktivität im Blut stark herabsetzt (13, 55), so spricht dies auch für die physiologische Rolle des Heparins. Da auch durch neuere elektronenmikroskopische Untersuchungen ein Durchtreten der Lipoproteine durch die Kapillar- und Zellwand nicht bestätigt werden konnte (17) und eine Hydrolyse erforderlich ist (52), kommt der Lipoproteinlipase eine große Bedeutung zu.

Die im Blut gemessenen Aktivitäten würden aber nach Cleland und Jacono (18) und Frederickson (19) nur für den Abtransport von 5-10% der Neutralfette ausreichen. Der Großteil der Neutralfette wird aber im Kapillarwall des Fettgewebes gespalten, wo nach Havel (20) der Hauptlokalisationsort der Lipoproteinlipase ist.

Ebenso scheinen Leber und Herz (91, 104) Lokalisationsorte der Lipoproteinlipase zu sein. Eine Freisetzung von Lipoproteinlipase aus der mit heparinisierten Blut perfundierten Leber konnte bei Ratten (89), Hunden (84, 90) und bei Menschen (89) nachgewiesen werden.

Da die Lipoproteinlipase an festes Gewebe gebunden ist, sind demnach exakte quantitative Messungen schlecht möglich. Auch in vitro-Versuche, etwa an entnommenem Gewebe, erlauben bisher keine quantitativen Aussagen, da durch das Aufarbeiten der Extrakte ein großer Teil der lipolytischen Aktivität zerstört wird.

Nimmt man an, daß die Freisetzung des Enzyms aus dem Gewebe in das Blut von nicht allzuvielen Unwägbarkeiten abhängt und proportional einer bestimmten Heparinmenge ist, dann wäre die lipolytische Aktivität des Blutes nach einer bestimmten Heparindosis ein hinreichender Parameter für die im Gewebe vorhandene Enzymmenge.

2) Bedeutung der Lipoproteinlipase in der Pathogenese von Krankheiten.
Ist das lipolytische System vermindert funktionstüchtig, so ist der Abtransport der Neutralfette aus dem Blut gestört, und infolgedessen eine Vermehrung dieser Stoffe im Blut zu erwarten. Dieser Mechanismus einer Retention liegt einem Teil der Krankheiten zugrunde, die mit einer Erhöhung der Neutralfette des Blutes verbunden sind. Bei Arteriosklerose, Herzinfarkt und manchen Formen der Hyperlipämie stellte die Mehrzahl der Untersucher (22-29) eine verminderte lipolytische Aktivität fest. In Übereinstimmung dazu stellten andere Autoren bei Arteriosklerose und Herzinfarkt (30-36) einen erhöhten Neutralfettspiegel des Blutes und ein langsameres Verschwinden einer alimentär erzeugten Lipämie fest. Als Ursache dieser verminderten lipolytischen Aktivität wird einerseits ein Mangel an Heparin bzw. Lipoproteinlipase (22-26, 28-32), andererseits eine Vermehrung von Hemmfaktoren im Blut diskutiert (93). Solche Hemmfaktoren konnten isoliert (94, 95, 96,97) und bei Arteriosklerotikern (99, 71) und Patienten mit essentieller Hyperlipämie (72) nachgewiesen werden.

Keine verminderte lipolytische Aktivität wurde bei der durch Insulinmangel bedingten diabetischen Hyperlipämie festgestellt (80), auf welche in diesem Rahmen nicht eingegangen werden kann.

Während bei Arteriosklerose und Herzinfarkt meistens eine verminderte lipolytische Aktivität festgestellt wurde, ist das Bild bei der Hyperlipämie nicht einheitlich. Nur ein kleiner Teil der Fälle - seit Ahrens (39) fettinduzierte Hyperlipämie (FIH) bezeichnet - zeigt eine verminderte lipolytische Aktivität (27, 29), der größere Teil zeigt eine normale, ja sogar erhöhte lipolytische Aktivität (27, 38). In letzterem Falle liegt keine Insuffizienz des Enzymsystems vor. Weitere von Fredrickson (37) ausdifferenzierte Formen der Hyperlipämie zeigen eine Fehlsynthese der Lipoproteide, wobei die lipolytische Aktivität normal, oder vermindert sein kann. Das Bild jedenfalls ist noch nicht abgerundet, und es kann bereits geschlossen werden, daß die Auffassung der Hyperlipämie nur als Retentionsproblem nicht mehr gerechtfertigt ist.

Die Frage, wodurch die verminderte lipolytische Aktivität bedingt ist, kann noch nicht beantwortet werden. Nach Bialkin (100) gibt es folgende Möglichkeiten:

a) Fehlbildung der Chylomikronen
b) Mangel an korpereigenem Heparin, das für die Aktivierung der Lipoproteinlipase von Bedeutung ist
c) Mangel an freisetzbarem Enzym trotz genügend vorhandenem endogenem und exogenem Heparin
d) Hemmkörper der Lipoproteinlipase im Plasma
e) zu wenig Acceptoren für die bei der Triglyceridspaltung frei werdenden Fettsäuren.

Alle diese Möglichkeiten wurden bisher in der Literatur beschrieben und diskutiert. Eine endgültige Aussage ist erst nach besserer Abklärung des Problems möglich.

3) Therapeutische Möglichkeiten.

Das durch die Insuffizienz des Klärsystems auftretende Symptom einer mehr oder weniger starken Hyperlipämie ist folgenschwer. Der Risikofaktor, an einer Arteriosklerose und an ihren Folgen, wie Herzinfarkt und peripheren Gefäßleiden zu erkranken, nimmt mit erhöhtem Blutfettgehalt zu, wie bei Hyperlipämikern statistisch eindeutig demonstriert wird (35, 36, 40, 78).

Dasselbe geht aus epidemiologischen Studien, etwa der Framingham-Studie (41, 42) hervor. Bei dieser Studie wurde - wohl wegen Fehlens einer gut reproduzierbaren Bestimmungsmethode für Triglyceride zu damaliger Zeit - nur der Serum- Cholesterinspiegel bestimmt. Das Risiko, an einem Herzinfarkt zu erkranken, steigt nach dieser Studie linear mit dem Serum- Cholesterinspiegel an.

Nach Brown und Mitarbeitern (36) besteht zwischen erhöhtem Serum- Cholesterinspiegel und erhöhtem Serum- Triglyceridspiegel als Risikofaktor kein Unterschied. Nach Albrink (35) ist aber die Gefahr, an einem Herzinfarkt zu erkranken, bei erhöhtem Triglyceridspiegel wesentlich größer als bei erhöhtem Cholesterinspiegel. Nur 48% der Infarktpatienten hatten einen erhöhten Cholesterinspiegel, 82% dagegen einen erhöhten Triglyceridspiegel. Ebenso findet Cramer (78) eine bessere Korrelation zwischen Koronarsklerose und Triglyceridspiegel. Nach diesen Befunden scheint der Risikofaktor Triglyceridspiegel vor dem Risikofaktor Cholesterinspiegel zu stehen.

Um diese Risikofaktoren zu reduzieren oder ein Fortschreiten des Prozesses zu vermeiden, werden präventive oder therapeutische Maßnahmen vorgeschlagen. Im Wesentlichen sind es drei Möglichkeiten:

a) Diät,

b) vermehrte körperliche Aktivität,

c) Medikamente.

Vorrangig sind nach Schlierf (43) diätische Maßnahmen. Auch medikamentöse Maßnahmen werden in Erwägung gezogen (31, 46, 47, 51). Ihr Platz in der Therapie ist aber noch nicht gesichert.

Auf die Heparintherapie als Substitutionstherapie des lipolytischen Systems, wodurch die vermehrten Neutralfette aus dem Blut eliminiert würden, wurden große Hoffnungen gesetzt. Durch diese Therapie würde:

a) die Gerinnung des Blutes beeinflußt und damit die Thrombosegefahr verringert,

b) der erhöhte Neutralfettspiegel im Blut gesenkt, wodurch ein Fortschreiten des arteriosklerotischen oder coronarsklerotischen Prozesses verzögert, und gleichzeitig nach Eggstein (79) die Thrombosegefahr verringert wird.

Die Heparintherapie als Langzeitbehandlung nach Herzinfarkt wird von amerikanischen und schwedischen, neuerdings auch von deutschen Arbeitsgruppen erprobt. Die Ergebnisse sind ermutigend (48–50). Allerdings verdient nach bisherigen statistischen Aussagen das Heparin keinen Vorzug vor dem Marcumar.

II PROBLEMSTELLUNG

Bei der Arteriosklerose, die als periphere Gefäßsklerose, und am Herzen als Koronarsklerose mit der Gefahr eines Herzinfarktes auftritt, ist der Stoffwechsel gestört. Dies äußert sich darin, daß der Blutfettspiegel erhöht ist, und eine alimentär erzeugte Hyperlipämie nur zögernd verschwindet (30-36). Eine Insuffizienz des lipolytischen Systems wurde hauptsächlich als Ursache dieser Symptome angesehen (22-26).

Da ein erhöhter Blutfettspiegel in mehrfacher Hinsicht nicht sehr günstig ist, wurde von mehreren Seiten vorgeschlagen, mit Heparin zu therapieren, und damit eine Senkung des Blutfettspiegels zu erreichen. Als erfolgversprechend wird von mehreren Autoren die Langzeitbehandlung des Herzinfarktes mit subcutan appliziertem Heparin angesehen (43,48-50). Da dadurch sowohl die Blutgerinnung, als auch der Blutfettspiegel günstig beeinflußt würde.

Untersuchungen über die lipolytische Aktivität nach subcutanem Heparin in hohen Dosen wurden bisher noch kaum durchgeführt. Die von anderen Autoren bisher durchgeführten Untersuchungen sind wegen der angewandten Methoden schlecht reproduzierbar, (54, 61, 69, 81) oder es wurden nur Patienten untersucht (56, 81). Ziel dieser Arbeit war es, die lipolytische Aktivität bei Normalpersonen nach subcutaner Verabreichung von höheren Dosen Heparin zu beobachten, und durch Vergleich mit entsprechenden Dosen Heparin intravenös einen Depoteffekt zu demonstrieren. Weiterhin sollte untersucht werden, ob durch das exogene Heparin und der damit verbundenen übermäßigen Beanspruchung des Enzymsytems eine verminderte Aktivierbarkeit des Enzyms auftritt.

III METHODIK

Die Bestimmung der lipolytischen Aktivität erfolgte mit der von Fredrickson, Ono und Davis (27) angegebenen Methode, welche von uns modifiziert wurde.

Prinzip: Ein Plasma - Substrat - Albumingemisch wird im Verhältnis 2:3:5 unter Standardbedingungen (konstante Temperatur, genaue festgesetzte Inkubationsdauer, und pH 8,4)inkubiert.
Die während der Inkubation pro Zeitabschnitt freigesetzte Menge Fettsäuren (FFS) wird bestimmt. Es wird angenommen, daß die entstehenden freien Fettsäuren der im Plasma vorhandenen Enzymmenge proportional sind. Es kann daher aus der in der Zeiteinheit entstehenden FFS-Menge auf die im Plasma vorhandene Enzymmenge geschlossen werden.

Die Analyse besteht aus zwei Abschnitten:
a) der Fettspaltung: Während der Inkubation bei 37° C. werden in einer bestimmten Zeiteinheit aus dem zugegebenen Substrat, bestehend aus Neutralfetten, durch das Enzymsystem Fettsäuren freigesetzt,
b) Die freigesetzten Fettsäuren werden titrimetrisch nach der Methode von Dole in der Modifikation von Trout bestimmt (53).

Reagenzien, benötigt zur Analyse:
1) Albuminlösung 20%. Herstellung aus Trockenalbumin (Serum-Albumin vom Rind RHD 04 "Behringwerke"). Ansatz mit 0,1 M $(NH_4)_2SO_4$. 1g/5ml 0,1 M $(NH_4)_2SO_4$.
2) Substratlösung: Herstellung aus Intralipid 20%. ("Vitrum" Stockholm. Vertrieb in Deutschland: Deutsche Kabi- München).

Zusammensetzung in 1 000 ml:	Sojabohnenöl	200,0
	Lecithin	12,0
	Glycerin	25,0
	Aqua steril. ad	1 000,0

Bei der Berechnung der Substratmenge wurde nur das Sojabohnenöl, nicht aber das Lecithin berücksichtigt. 225 mg Substrat pro 10 ml Inkubationsgemisch wurden von uns als optimal gefunden (Abb. 7). 225 mg entsprechen 1,12 ml Intralipid. Diese Menge wurde, um das Verhältnis von 2:3:5 zu wahren, ad 3 ml mit isotonischer NaCl verdünnt.

3) Extraktionsgemisch, bestehend aus 40 Teilen iso- Propanol, 10 Teilen n-Heptan, 1 Teil n-H_2SO_4.

Versuchsablauf: Zu bestimmten Zeiten nach der Heparinapplikation wurden dem Patienten 5 ml Blut aus der Vene entnommen, welches mit zwei Tropfen einer 100 I.E/ml enthaltenden wässrigen Heparinlösung ungerinnbar gemacht wurde. Diese Heparinmenge bewirkt nach Fredrickson (27) noch keine Hemmung der lipolytischen Aktivität während der Inkubation.
Anschließend wurde 10 Minuten bei 3 500 U/min. und 4° C. zentrifugiert. Das erhaltene Plasma wurde nach Möglichkeit sofort verarbeitet. War dies nicht möglich, so wurde es kurze Zeit bei 4-8°C. im Eisschrank aufbewahrt.

Ansatz des Inkubationsgemisches:
5 ml der Albuminlösung (s.o.), 3 ml der Substratlösung (s.o.) und 2 ml des zu untersuchenden Plasmas wurden in ein Becherglas gegeben. Mit wenigen Tropfen n-NaOH wurde am pH-Meter (Beckman Instruments, München) ein pH von 8,4 eingestellt.

Dieses Plasma- Substrat- Albumingemisch, bestehend aus 2:3:5 Anteilen, wurde in ein großes Zentrifugenglas gegeben und im Wasserbad von 37° C. inkubiert. Da das Inkubationsgemisch zur Schichtenbildung neigt, wurde ein Magnetrührer benützt. Damit das Inkubationsgemisch die Temperatur des Wasserbads von 37° C. annehmen konnte, was ja für die Reaktionsgeschwindigkeit und damit den geradlinigen Verlauf der Reaktion wichtig ist, wurde es 5 Min. vorinkubiert.

Als Probe wurde jeweils 1 ml entnommen. Nach 5 Min. erfolgte die Entnahme des Nullwertes, weitere Proben wurden in der Regel 30 Min. und 60 Min. danach entnommen, und in Schüttelzylinder gegeben.

In den Schüttelzylindern war Extraktionsgemisch, bestehend aus 40:10:1 Teilen Isopropanol, n- Heptan und n- H_2SO_4, vorbereitet, welches die Reaktion stoppte.

Alle Proben wurden - um genauere Ergebnisse zu erzielen - zweifach entnommen und Doppelbestimmungen ausgeführt. Um ein Zusammenballen des Albumins zu vermeiden, wurde nach Zugabe des Extraktionsgemisches nur leicht geschüttelt. Nach 5 Min. erfolgte kräftiges Schütteln.

Die daran anschließende Bestimmung der FFS erfolgte nach Dole, in der Modifikation von Trout (53).

Die lipolytische Aktivität, nach der internationalen Nomenklatur in μval/ml Plasma/min. angegeben (53), errechnet sich wie folgt:

1) Die in einer bestimmten Zeiteinheit, z.B. vom Nullpunkt bis 30 Min. entstehenden FFS werden bestimmt.

2) Die pro Min. entstehenden FFS erhält man daraus durch Division mit 30.

3) Da in 1 ml Inkubationsgemisch 0,2 ml Plasma enthalten sind, die Aktivität aber pro ml Plasma angegeben wird, muß mit 5 multipliziert werden.

IIIa BEMERKUNGEN UND KRITIK DER METHODE:

Die Methode wurde von uns durchgetestet und erlaubt es, kleinste Enzymaktivitäten zu bestimmen (Abb. 7).
Die Inkubationsdauer - oben wird im Mittel 60 Min. angegeben - wird sich nach den zu erwartenden Aktivitäten zu richten haben. Sind hohe Werte zu erwarten, genügt eine Inkubation von 30 Min. während bei niedrigen Werten, z.B. der Bestimmung der endogenen lipolytischen Aktivität, eine Inkubationsdauer über zwei Stunden erforderlich sein kann. Die Bestimmung von Zwischenwerten ist zwecks Feststellung der Geradlinigkeit der Reaktion obligatorisch.

Als Indikator empfiehlt sich Nilbau A, als Gebrauchslösung 1:6 mit Äthanol verdünnt, pro Titration 2 ml. Die von Trout (53) angegebene Menge von 1 ml einer Gebrauchslösung 1:10 pro Titration ist für die Bestimmung der FFS im Plasma hinreichend. In unserem Inkubationsgemisch ist aber zusätzlich Substrat und Albumin enthalten. Daher ist die Gebrauchslösung 1: 10 zu blaß, und der Farbumschlagspunkt kann nur sehr schwer abgelesen werden.

IV EIGENE UNTERSUCHUNGEN:

Die Untersuchungen wurden an Studenten und altersmäßig unausgewählten stationären Patienten der Medizinischen Poliklinik durchgeführt, die keine Anzeichen einer Arteriosklerose oder Hyperlipämie aufwiesen, und die keinen Herzinfarkt durchgemacht hatten.
Die Versuchspersonen wurden während der Versuchsdauer fettfrei ernährt. Vor Versuchsbeginn - die Patienten waren meistens noch nüchtern - wurde der

Nullwert entnommen, sodann die entsprechenden Mengen Heparin injiziert, und zu den angegebenen Zeiten die Proben entnommen. Es wurde das Präparat Liquemin® der Firma Hoffmann - La Roche AG verwendet.

Folgende Untersuchungen wurden angestellt:

Bestimmung der lipolytischen Aktivität:

a) Nach 20 000 I.E. Liquemin® subcutan über einen Zeitraum von 48 Stunden,

b) Nach 20 000 I.E. Liquemin® intravenös über einen Zeitraum von 8 Stunden,

c) Nach 10 000 I.E. Liquemin® subcutan über einen Zeitraum von 2 Stunden,

d) Nach 2 000 I.E. Liquemin® subcutan über einen Zeitraum von 2 Stunden,

e) 10 Min. nach einer Dosis von 1 000 bzw. 1 500 I.E. Liquemin® intravenös.

Dieser Versuch wurde vor der subcutanen Applikation von 20 000 I.E. Heparin und 36 Stunden nach der subcutanen Applikation angestellt, und sollte eventuelle Veränderungen der Erzymaktivität, bedingt durch die hohe Heparindosis, nachweisen.

V E R G E B N I S S E:

Die Abb. 1 und 1a zeigen das Verhalten der lipolytischen Aktivität im Serum nach subcutaner Applikation von 20 000 I.E. Liquemin® über einen Zeitraum von 48 Stunden. Die Messungen erfolgten an einem Kollektiv von insgesamt 8 Versuchspersonen. Da es technisch unmöglich bzw. für die Versuchspersonen unzumutbar war, über 48 Stunden in kürzeren Zeiträumen Bestimmungen durchzuführen, wurden drei Gruppen gebildet:

Bei Gruppe A, bestehend aus 3 Personen, erfolgten die Messungen von 0 - 12 Stunden in 2-stündigem Abstand.
Bei Gruppe B, bestehend aus 2 Versuchspersonen, von 12 - 24 Stunden in zweistündigem Abstand.
Bei Gruppe C, (insgesamt 3 Versuchspersonen) wurden Werte von 24 - 48 Std. in 6-stündigem Abstand bestimmt. Zusätzlich wurden noch folgende Werte gemessen: Nüchternwert, 1 Std. p.i., 12 Std. p.i.

Die Einzelkurven zeigen alle dieselbe Tendenz: Nach einem Maximum bei 1 - 2 Stunden p.i. beginnt ein kontinuierlicher Abfall. Nach 24 Stunden sind die Werte noch deutlich erhöht. Nach 36 Stunden sind meist die Ausgangswerte wieder erreicht. Dies steht in Diskrepanz zu den Ergebnissen von Nikkilä (54) und Engelberg (81), die mit Trübungsmessungen nach 22 Stunden bzw. 24 Stunden keine Aktivität nachweisen konnten, und steht teilweise in Einklang mit den Ergebnissen von Connor (69) und Boberg (56).

Die Streubreite der Einzelkurven ist sehr hoch, am Größten im Bereich von 0 - 12 Stunden, um mit niedrigeren Werten natürlicherweise auch kleiner zu werden. Eine Diskussion dieses Befundes erfolgt unten.

Bei einem Patienten mit allgemeiner Gefäßsklerose ist der 1-Std. Wert signifikant erniedrigt (siehe Punkt-Strich ;-.-). Dieser Patient wurde angehalten, fettreich zu essen, und zeigte auch jedesmal ein lipämisches Plasma.

Während die 12 - 24- und 30- Stundenwerte unauffällig sind, sind die 36- und 48- Stundenwerte bei diesem Patienten deutlich erhöht. Da nach 36 Std. keine durch exogenes Heparin bewirkte lipolytische Aktivität nachweisbar ist, handelt es sich wahrscheinlich um endogene lipolytische Aktivität, be-

dingt durch den erhöhten Triglyceridspiegel. Beziehungen zwischen Triglyceridspiegel und lipolytischer Aktivität im Plasma, wurden von Sailer (11) beschrieben.

Die Abb. 2 vergleicht Plasmaheparinspiegel (60) und lipolytische Aktivität nach 20 000 I.E. Liquemin® subcutan anhand von errechneten Mittelwerten (s. Tabelle I). Es besteht in etwa eine Korrelation zwischen Plasmaheparinspiegel und lipolytischer Aktivität. Diskrepanzen bestehen im Bereich des Maximums und im Bereich zwischen 24 und 36 Stunden. Die Deutung dieser Befunde erfolgt unten.

Die Abb. 3 zeigt das Verhalten der lipolytischen Aktivität im Blut nach intravenöser Applikation von 20 000 I.E. Heparin über einen Zeitraum von 8 Stunden. Das Maximum der Aktivität im Blut liegt nicht bei 10 Min. p.i., wie von Fredrickson (27), Yoshitoshi (57) und anderen nach kleineren Dosen Heparin intravenös angegeben, sondern bei 45 Min.

Damit konnten wir die Befunde von Sailer, Sandhofer und Braunsteiner (58) bestätigen, die für diese hohen Dosen bei 40 Min. ein Maximum angeben. Diese Verschiebung des Aktivitätsmaximums im Blut von 10 Min. bei kleinen Heparindosen auf 45 Min. bei großen Dosen - Fredrickson (27) und Yoshitoshi (57) verwenden 0,1 mg/kg Körpergewicht Heparin - könnte als Hemmung der Lipoproteinlipase in vivo aufgefaßt werden, die eventuell nach demselben Mechanismus wie die von mehreren Autoren (59, 85) nachgewiesene Hemmung durch überschüssiges Heparin in vitro verläuft, oder es könnte sich um eine Hemmung nach Freisetzung eines Inhibitors handeln. Nach dem Maximum erfolgt ein konstanter Abfall. Nach 8 Stunden ist noch eine geringe aber deutliche Aktivität nachzuweisen.

Abb. 4 zeigt einen Vergleich der lipolytischen Aktivität nach intravenöser und subcutaner Applikation von 20 000 I.E. Liquemin®. Der Unterschied ist augenfällig. Bei intravenöser Applikation erfolgt ein rasanter Anstieg und Abfall der Aktivität, wogegen die Kurve nach subcutaner Application über längere Zeit ziemlich konstant verläuft.

Die Aktivitäten verhalten sich eine Stunde nach der Heparingabe wie 1:3, die Unterschiede werden aber im Laufe der Zeit immer geringer. Nach 6 Std. kreuzen sich die Kurven. Der Depoteffekt - wohl dadurch bedingt, daß das Heparin nach subcutaner Applikation verzögert in den Kreislauf gelangt - kann deutlich aufgezeigt werden. Die Werte nach subcutaner Applikation liegen sowohl zunächst hinsichtlich der Fermentaktivierung, als auch der Gerinnungsphysiologie (60) nicht so hoch. Sie liegen aber 6 Stunden p.i. höher als die Werte nach i. v. Heparinapplikation, und sind über längere Zeit immer konstant hoch.

Die Abb. 5 zeigt bei einem Kollektiv von 5 Versuchspersonen eine Verminderung der lipolytischen Aktivität nach längerer Einwirkung von Heparin im Blut. Es wurden 20 000 I.E. Heparin s.c. injiziert. 36 Stunden danch wurde eine Testdosis von 1 000 bzw. 1 500 I.E. Heparin intravenös injiziert, 10 Minuten später wurde eine Probe entnommen und die lipolytische Aktivität bestimmt, in der Probe als Testwert bezeichnet. Als Eichwert war dieselbe Dosis vor Versuchsbeginn zur Bestimmung der lipolytischen Aktivität intravenös appliziert worden. Der Unterschied zwischen Eichwert und Testwert ist signifikant. In keinem Falle konnten bei beiden Messungen gleiche oder ähnliche Werte nachgewiesen werden.

Abb. 6 zeigt den Anstieg von Plasma - Heparinspiegel und lipolytischer Aktivität nach 10 000 I.E. Heparin subcutan über einen Zeitraum von 2 Std. Schon 10 Min. nach Applikation kann eine beachtliche Menge Heparin bzw. eine entsprechende lipolytische Aktivität im Blut nachgewiesen werden. Das Maximum der lipolytischen Aktivität liegt bei dieserApplikationsform zwischen 1 - 2 Stunden p.i.

Die lipolytische Aktivität nach geringen Dosen Heparin subcutan ist entsprechend geringer und hält kürzer an (Tab. IV). Bei 2 Versuchspersonen wurden 2 000 I.E. Heparin subcutan appliziert und die Aktivität über 2 Std. bestimmt. Bei 1 Std. wurde die höchste Aktivität festgestellt, nach 2 Std. war sie kaum mehr nachweisbar.

VI D I S K U S S I O N:

Trägt man die Einzelaktivitäten auf (Abb. 1), so erkennt man eine augenfällige Streubreite. Diese ist im Bereich von 0 - 12 Std. am Größten; in diesem Bereich wurden auch die größten Aktivitäten gemessen. Die Kurven varieren sowohl in ihrer Maximalhöhe als auch in ihrer Verlaufsform. Die fallende Tendenz ist auf allen Kurven mehr oder weniger gut zu erkennen. Die Ursachen für dieses Verhalten sind in den Faktoren zu suchen, die für die Höhe der lipolytischen Aktivität verantwortlich gemacht werden müssen. Hauptsächlich sind dies:

a) der Plasma- Heparinspiegel

b) die Kalorien- und Fettzufuhr

c) Faktoren individueller Art

d) pathologische Faktoren

e) Methode der Bestimmung.

ad a) Der wesentlichste Faktor für die Höhe der lipolytischen Aktivität ist der Plasma- Heparinspiegel. Eine signifikante Korrelation zwischen Plasma-Heparinspiegel und lipolytischer Aktivität konnte von Porte und Williams (65) festgestellt werden. Bei ihren Versuchen mit radioaktivem Heparin S^{35} an Ratten, konnten sie in den ersten 90 Min. p.i. eine deutliche Korrelation zwischen beiden Größen nachweisen. Nach 90 Min. sank die lipolytische Aktivität schneller, um nach 120 Min. nicht mehr nachweisbar zu sein, obwohl eine entsprechende Menge Heparin noch vorhanden war. Die Dialyse identifizierte dieses Heparin nach 90 Min. als Bruchstücke. So konnte auch die von Yoshitoshi et al. (57) verzeichnete Beobachtung seine Erklärung finden, daß das Heparin schneller aus dem Blut verschwand, als der nachgewiesenen lipolytischen Aktivität entsprach. Diese Autoren bestimmen das Plasma- Heparin gerinnungsphysiologisch. Da die gerinnungsphysiologische Eigenschaft am empfindlichsten ist, und an das Gesamtmolekül gebunden ist, wird sie beim Abbau des Heparins zuerst verloren gehen, während die lipaseaktivierende Eigenschaft auch bei teilweise abgebautem Heparin noch nachweisbar ist (66).
Die von diesen Autoren nachgewiesene Diskrepanz zwischen Heparinspiegel und lipolytischer Aktivität ist also durch die Methodik der Heparinbestimmung bedingt.

Die Abhängigkeit der lipolytischen Aktivität vom Plasma- Heparinspiegel macht es erforderlich, bei vergleichenden Untersuchungen gleiche, oder besser gesagt, äquivalente Heparindosen zu verwenden. Die meisten Autoren beziehen die Heparindosen auf das Körpergewicht, und verwenden Testdosen von

0,1 mg/kg/KG aber auch höhereund niedrigere. Die Aktivitätsbestimmung erfolgt dann meist zum Zeitpunkt des Maximums, also 10 Min. p.i. Damit werden zugleich die exaktesten Werte erhalten, da die individuell unterschiedlichen Abbau- und Eliminationsraten des Heparins nicht berücksichtigt werden müssen.

Bei subcutaner Application aber ist der Einstrom des Heparins aus dem subcutanen Depot nicht konstant, wie die große Schwankungsbreite des Plasma-Heparinspiegels (60) erkennen läßt. Zudem werden exakte Messungen, etwa mit Heparin S^{35} und anschließender Dialyse, immer einen mehr oder weniger großen Anteil von Heparinmethaboliten finden, der vielleicht bereits aus dem subcutanen Depot geliefert wurde, sicher aber beim Abbau des Heparins im Blut entstand. So dürfte die große Streubreite der lipolytischen Aktivität im Zeitraum von 0 - 12 Std. hauptsächlich im differierenden Einstrom, und im Abbau und Elimination des Heparins seine Ursache finden.

ad b) Die Kalorien- und Fettzufuhr, ist für die Höhe der lipolytischen Aktivität sehr wesentlich. Bereits 7 - 10 Tage nach dem Übergang von einer fettreichen zu einer fettarmen Kost, konnte Fredrickson (27), ebenso Kuo et al. (67) und Macnab et al. (68), sowohl bei Normalpersonen als auch Hyperlipämikern eine signifikante Verminderung der heparininduzierbaren lipolytischen Aktivität demonstrieren. Aus diesen Erkenntnissen heraus müßte den Patienten eine Diät verordnet werden, welche dem Versuch 7 - 10 Tage vorangeht. Diese Konsequenz wurde von den meisten Untersuchern nicht gezogen und eine entsprechende Diät außer Acht gelassen. Aus organisatorischen Gründen, und da wir die dadurch entstehende Fehlerbreite als tragbar ansahen, wurde von uns auf diese Diätvorbereitung verzichtet. Lediglich während des Versuchs wurde eine fettfreie Kost verabreicht, um erhöhte

Werte durch eine zusätzliche endogene Fermentaktivierung zu vermeiden.

ad c) Individuelle Faktoren sind exogen nicht beeinflußbar und müssen bei der Streubreite in Kauf genommen werden. Welche Faktoren hier hauptsächlich eine Rolle spielen, kann heute noch nicht genau angegeben werden. Wesentlich dürfte hier der endogene Fettstoffwechsel sein, d.h. die individuell vermehrte oder verminderte endogene Neutralfettsynthese in der Leber (37, 73, 77). Dadurch kommen unterschiedlich hohe Neutralfettspiegel im Blut zustande, welche auch unterschiedlich hohe lipolytische Aktivitäten hervorrufen, wie von Sailer, Sandhofer u.a. (11, 14) nachgewiesen wurde. Wie nach den von Kuo et al. (67) durchgeführten Messungen zu schließen ist, dürfte die individuelle Streubreite noch recht hoch sein.

ad d) Pathologische Faktoren können bei uns ausgeklammert werden. Patienten, welche die klinischen Symptome einer Arteriosklerose, Herzinfarkt oder Hyperlipämie zeigten, wurden bei unseren Versuchen nicht verwendet. Eine Ausnahme bildet der Patient K., auf Abb. 1 mit .–.– gezeichnet.

ad e) Die Bestimmungsmethode der lipolytischen Aktivität wurde von uns durchgetestet und liefert gut reproduzierbare Werte (Abb. 7). Sowohl bei geringen Enzymaktivitäten, etwa bei der endogenen lipolytischen Aktivität, als auch bei hohen Aktivitäten ist ein geradliniger Verlauf nachweisbar. Bei der Doppelbestimmung (Tab. VII) ergeben sich kaum unterschiedliche Werte.

Vorraussetzung für genaue Ergebnisse ist natürlicherweise exaktes Arbeiten mit frischem Patientenplasma, sauberen Glaswaren und sauberen Reagentien. Diese Kriterien wurden von uns eingehalten. Eine Streubreite durch ungenaues Arbeiten ist daher nicht zu erwarten.

Diese drei Faktoren, nämlich Heparinspiegel im Blut, Kalorien- Fettzufuhr, und Faktoren individueller Art, sind ursächlich für die Streuung und den unterschiedlichen Kurvenverlauf verantwortlich. Wesentlichster Faktor ist aber die subcutane Applikationsform des Heparins mit dem damit verbundenen, von Versuchsperson zu Versuchsperson unterschiedlich schnellen Einström von Heparin in das Blut.

Vergleicht man die Mittelwertskurven von metachromatisch bestimmten Plasma-Heparinspiegel (60) und lipolytischer Aktivität nach 20 000 I.E. Heparin subcutan,(Abb. 2), so kann in etwa eine Korrelation zwischen diesen beiden Größen festgestellt werden. Lediglich im Bereich zwischen 24 und 48 Std. p.i. treten größere Diskrepanzen zwischen Heparinspiegel im Blut und lipolytischer Aktivität auf. Dafür gibt es mehrere Erklärungen:

a) Die metachromatische Heparinbestimmung erfaßt auch Heparinmetaboliten, die nicht mehr enzymaktivierend wirken können.
b) Die Enzymmenge kann sich im Laufe der Zeit verringern.
c) Es entstehen im Laufe der Zeit Hemmkörper.

ad a) Porte und Williams (65) stellten fest, daß metachromatisch mehr Heparin nachzuweisen ist, als der lipolytischen Aktivität entspricht, und führten dies auf die metachromatische Bestimmung des Heparins zurück. Dabei werden auch Heparinmetaboliten erfaßt, welche keine enzymaktivierende Eigenschaft mehr besitzen. Diese Metaboliten konnten oben genannte Autoren durch radioaktive Markierung mit S^{35} und Dialyse nachweisen.

ad b) Der mit unseren Versuchen erbrachte Nachweis, daß nach Vorinjektion des Heparins und damit erfolgter Induzierung des Enzymsystems durch exo-

genes Heparin eine verminderte lipolytische Aktivität vorliegt, könnte mit einer kurzdauernden Erschöpfung des Enzymsystems erklärt werden. Es ist wahrscheinlich, daß diese Erschöpfung des Enzymsystems nur im Falle hoher Heparindosen vorkommt.

ad c) Hemmkörper konnten als pathologischer Befund (99, 71, 72), aber auch schon physiologischerweise (94 - 97) nachgewiesen werden. Eine Zunahme von Hemmkörpern bei unseren Versuchen könnte als Gegenmaßnahme des Körpers aufgefaßt werden. Die exogene Heparinzufuhr stellt nämlich eine starke Übertreibung der physiologischen Vorgänge dar, welche vom Körper mit einer Gegenregulation beantwortet wird.

Die Frage, ob die verminderte lipolytische Aktivität durch Erschöpfung oder Hemmung des Enzymsystems bedingt ist, kann durch diese Versuche nicht beantwortet werden.

48 Stunden p.i. waren die Werte des freigesetzten Glycerins und der optischen Dichte sehr gering. Dies würde mit unseren Ergebnissen übereinstimmen, aber durch die Anwendung verschiedener Methoden sind exakte Vergleiche nur bedingt anstellbar.
Es ist bemerkenswert, daß dieser Autor bei den sehr unterschiedlichen Heparindosen von 20 000 I.E. und 5 000 I.E. Heparin subcutan bis 36 Std. p.i. gleiche lipolytische Aktivitäten erhält; lediglich im Bereich von 1 - 4 Std. p.i. macht sich die höhere Dosis von 20 000 I.E. Heparin subcutan durch höhere Aktivitäten bemerkbar.

Dagegen konnten Eiber et al. (61) nach 5 000 I.E. Heparin subcutan keine Aktivität, und nach 20 000 I.E. Heparin subcutan lediglich eine Akti-

vität über 16 Stunden nachweisen. Diese Autoren führten dieselben Methoden wie Connor (69) durch, nämlich Trübungsmessungen und Messung der Glycerinproduktion im in-vitro-Test. Außerdem verwenden sie gesunde Versuchspersonen. Es ist anzunehmen, daß diese Werte auf die von diesen Autoren angewandte Methode zurückzuführen sind. Geday (62) und wir (Tab. IV) konnten nämlich bei einer Heparindosis von 2 000 I.E. Heparin subcutan bis zu 2 Std. p.i. eine lipolytische Aktivität nachweisen.

Die Ergebnisse Bobergs (56) stimmen mit den unseren teils überein, teils zeigen sich starke Diskrepanzen. Letztere dürften durch das andersartige Patientengut, weniger durch die andersartige Methode bedingt sein. Boberg verwendet Herzinfarktpatienten, bei welchen eine verminderte lipolytische Aktivität - wie oben erwähnt - pathognomonisch ist (22 - 26). Die Nüchternwerte, ebenso die Postheparinwerte nach 24, 36 und 48 Std. p.i. stimmen mit unseren recht gut überein. Starke Diskrepanzen bestehen im Bereich von 0 - 12 Std. Die Werte liegen in diesem Bereich auf einer Höhe von 0,05 μval/ml/min. bei 2 Stunden, und 0,045 μval/ml/min. bei 12 Std. und sind damit im Vergleich zu unseren Werten (s. Abb. 1a) stark erniedrigt. Die deutlichsten Unterschiede bestehen im Bereich von 1 - 2 Std., wo die lipolytische Aktivität mit 0,05 μval/ml/min. um über die Hälfte unserer Werte vermindert ist. Der Unterschied 12 Std. p.i. ist, mit 0,045 μval/ml/min zu 0,06 μval/ml/min. bei uns weniger deutlich.

Daß auch die länger dauernde Anwendung von Heparin nicht zu einer dauernden Erschöpfung des Enzymsystems führt, konnte von mehreren Autoren (69, 70, 56) nachgewiesen werden. Es wäre sogar durch die dauernde Provokation eine Induktion der Enzymsynthese denkbar, wie es auch von anderen Enzym-

systemen bekannt ist. Eine solche konnte aber von Boberg (56) bei vergleichenden Aktivitätsbestimmungen an Herzinfarktpatienten zwischen einer Heparingruppe und einer Placebogruppe nicht festgestellt werden.

Ein Vergleich unserer Ergebnisse mit denen anderer Autoren nach gleich hohen Dosen Heparin subcutan zeigt teilweise übereinstimmende Ergebnisse, teilweise auch signifikante Unterschiede. So konnte Nikkilä (54) nach 20 000 I.E. Heparin subcutan mit Trübungsmessungen nur bis 22 Std. eine lipolytische Aktivität nachweisen. Dieses Ergebnis dürfte durch die angewandte Methode bedingt sein.

Engelberg (81) verwendet als Versuchspersonen Arteriosklerotiker. Er führt Trübungsmessungen durch und mißt im in-vitro-Test die im Postheparinplasma entstehenden freien Fettsäuren. Seine Ergebnisse nach 20 000 I.E. Heparin sind uneinheitlich, und zeigen eine starke Streubreite. So erhält er bei einer Versuchsperson 24 Std. p.i. sogar die höchste Aktivität, übereinstimmend bei beiden oben angeführten Methoden. Bei den meisten Versuchspersonen konnte er aber 24 Std. p.i. mit beiden Bestimmungsmethoden keine oder nur eine geringe Aktivität feststellen.
Connor (69) verwendete Koronarsklerotiker bzw. Cerebralsklerotiker neben gesunden Versuchspersonen. Er stellte fest, daß die lipolytische Aktivität 16 und 24 Std. p.i. bei gesunden und kranken Versuchspersonen gleich ist, und daß das Alter auf die lipolytische Aktivität keinen Einfluß hat. Er konnte nach 20 000 I.E. Heparin subcutan sowohl durch Messung der optischen Dichte, als auch des entstandenen Glycerins im in-vitro-Test 24 Std. nach Heparinapplikation eine signifikante Aktivität nachweisen, welche 36 Std. p.i. anhielt.

Einen Kurvenverlauf ähnlich dem Bobergs, mit stark erniedrigtem 1 - 2 Stundenwert, erhielten wir bei unserem Patienten K. (s. Abb. 1 .-.-).
Dieser hatte eine allgemeine Gefäßsklerose, paßt also gut in die Gruppe der Krankheiten mit verminderter Aktivität. Diese Feststellung würde also dafür sprechen, daß die Diskrepanzen zwischen Boberg und unseren Versuchen vor allem im verschiedenen Patientengut zu suchen sind, undweniger in der unterschiedlichen Methode. Da bei beiden Methoden dasselbe Substrat Intralipid verwendet wurde, sind nach Eiber et al. (83) auch gleiche oder ähnliche Ergebnisse zu erwarten. Es sei denn, daß die andersartige Zusammensetzung des Inkubationsgemisches bei Boberg (82), auch andere Ergebnisse verursacht.
Nur unter der Annahme, daß die beiden Methoden genau die gleichen Werte liefern, ist ein Vergleich der beiden Patientengruppen, und damit der Ergebnisse erlaubt. Bei dieser Annahme ist festzustellen, daß die Diskrepanzen nur im Bereich hoher Heparindosen, und damit hoher lipolytischer Aktivitäten auftreten, während im Bereich niedriger Werte die Aktivitäten bei beiden Kollektiven gleich sind. Die Insuffizienz des lipolytischen Systems, bzw. die Hemmwirkung, wird also mit steigenden Heparindosen, und damit höheren lipolytischen Aktivitäten signifikant, wie aus einem Vergleich der 2-, 12- und 24- Stundenwerte beider Kollektive hervorgeht.

VII ZUSAMMENFASSUNG:

a) Es wurde bei 8 Patienten die lipolytische Aktivität nach subcutaner Applikation von 20 000 I.E. Heparin bestimmt. Dabei ließ sich bis 36 Std. p.i. eine lipolytische Aktivität nachweisen.

b) Metachromatisch bestimmtes Heparin im Blut und lipolytische Aktivität im Blut wurden miteinander verglichen. Dabei zeigte sich zunächst eine Korrelation. Lediglich im Bereich zwischen 24 und 48 Stunden p.i. waren die Heparinspiegel größer, als nach der lipolytischen Aktivität zu erwarten gewesen wäre.

c) Die Werte nach gleichen Dosen intravenös zeigen einen steilen Anstieg mit Maximum bei 45 Min. p.i., welcher von einem kontinuierlichen Abfall gefolgt ist. Nach 8 Std. ist noch eine geringe, aber deutliche Aktivität nachweisbar.

d) Ein Vergleich der beiden Applikationsarten zeigt bei der subcutanen Applikation einen signifikanten Depoteffekt, wobei die für die Blutgerinnung und lipolytische Aktivität bedeutsamen Werte weniger hoch sind, aber in einem physiologischeren Bereich liegen.

e) Es wurden Untersuchungen zur Frage einer Erschöpfung des Enzymsystems durchgeführt. Die erhaltenen Werte sprechen dafür; es wird aber auch eine Hemmung des Enzymsystems diskutiert.

Herrn Prof. Dr. N. Zöllner danke ich für die Überlassung des Themas, für die Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit, und für die Bewertung ihrer Niederschrift.

Den Herren Dr. G. Wolfram und Dr. W. Kayser schulde ich Dank für ihre stete Bereitschaft zur Unterstützung mit theoretischem Rat und praktischen Hinweisen.

VIII Literaturverzeichnis

1) Hahn, P. F. Abolishment of alimentary lipemia following injection of Heparin. Science 98, 19 (1943)

2) Schöll, H. Schettler, G. Die Lipoproteidlipase und ihre klinische Bedeutung. Erg. inn. Med. 16, 245 (1961)

3) H. Braunsteiner, S. Sailer, F. Sandhofer. Lipoproteidlipase, Symposium Wien 1962, S. Karger, Basel-New York (1963)

4) Robinson, D.S. Advances lip. Res. 1, 133, (1963)

5) Vogel, V.C., Bierman, E.L. Post-Heparin serum lecithinase in man and its positional specifity I.Lip. Res. 8, 46-53 (1967)

6) Siehe Übersichtarbeit Schöll, H. Schettler, G. Die Lipoproteidlipase und ihre klinische Bedeutung. Erg. inn. Med. 16, 245 (1961)

7) Korn, zitiert nach 6

8) Payza, A.N. Eiber, H.B. Danishefsky I. Studies on Plasma Clearing factor, BBA 111, 159 (1965)

9) Vogel, W.C. Zieve, L. Post-heparin phospholipase J. Lipid. Res. 5, 177 - 183 (1964)

10) Robinson, D.S. and French, I.E. Heparin the Clearing factor, Lipase and fat transport. Pharmacol. Rev. 12, 241 (1960)

11) Sailer S., Sandhofer F., Braunsteiner H. Steuerung der endogenen Lipoproteidlipaseaktivität im Plasma bei Normalpersonen und Pat. mit essentieller Hyperlipämie. DMW 90, 865 (1965)

12) Sandhofer F., Sailer S., Braunsteiner H. Untersuchungen über endogene Lipoproteidlipaseaktivität Klin. Wschr. 40, 855 (1962)

13) Sandhofer F., Sailer S., Braunsteiner H. Endogene Lipoproteidlipaseaktivität im menschlichen Plasma, DMW 89, 426 (1964)

14) Sailer S., Hyperlipämie und Lipoproteidlipaseaktivität im Plasma. Wiener Zeitschr. f. Inn. Med. 46, 433 (1965)

15) Juhlin L., Shelly W.B., Degranulation of the basophil of man induced by lipemia, Amer. J. Med. Sc. 242, 211 (1961)

16) Engelberg, H. Mechanismus involved in the reduction of serum triglycerides in man adding unsaturated fats to the normal Diet. Metabolism 15, 796 - 807 (1966)

17) Zitiert nach 52 und 37

18) Cleland, W. Jacono, J.M. Role of lipoproteidlipase in intravascular clearing of fat in human subjects. Fed. Proc. 16, 383 (1957)

19) Fredrickson, D.S. Mc Collester, D.L. Ono, K. The role of UFA transport in chylomicron metabolism. J. clin. Invest. 37, 1333 (1958)

20) Havel, R.I. Metabolism of lipids in Chylomicrons and very low density lipoproteins. In: Handbook of Physiology section 5. Adipose tissue. Edited by A.E. Renold and G.F. Cahill Jr. 824 p.p. Baltimore Waverly Press Inc. 1965 P. 499

21) Engelberg, H., Heparin lipemia clearing reaction and fat transport in man. Amer. J. clin. Nutr. 8, 21 (1960)

22) Hartmann G. Staub H. Klärfaktormangel bei coronarer Arteriosklerose, Cardiologia 40, 245 - 51 (1962)

23) Lemaire, A., Coeper, I., Cloarec, M. Cottet, I. Test de la clarification par l'héparine chez les artérosclereux. Presse med. 71, 325 - 26 (1963)

24) Martirani, Italo, Melo, Evaldo, H.L. Höxter Gunther, Wajchenberg, Bernardo L., Cintra Antonio Barros de Ulhoa. Heparin - induced clearing - factor: comparative studies between normal controls and patients with electrocardiographic signs of a post myocardial infarction, Metabolism 11, 1210 - 20 (1962)

25) Slack, J. Seymour, I. Mc Donald, L, Love, Fiona. Lipoproteinlipase levels and platelet- stickiness in patients with ischaemic heart - disease and in controls distinguishing those with an effected First-Degree-relative. Lancet, 1033 (1964)

26) Stork, A. Kucerova, L. Fabian, E: Die Aktivität der Lipoproteidlipase der Postheparinesterase bei Störungen des Fettstoffwechsels. Z. klin. Chemie 3, 38 - 41 (1965)

27) Fredrickson, D.S. Ono, K. Davis, L.L. Lipolytic Activity of Post-Heparin-Plasma in hyperglyceridemia. J. Lip. Res. 4, 24, (1963)

28) Kucerova, Stork, A. Fabian, E. Lipolysestörung bei idiopath. Hyperlipidämie Z. ges. inn. Med. 19, 844 - 48 (1964)

29) Wolff, R. Corcan, A. Recherches concernant la clarification plasmatique au cours des hyperlipémies essentielles, Path. et. Biol. 12, 434 - 38 (1964)

30) Denborough, M.A. Alimentary lipaemia in ischaemic heart disease. Clin. Sci. 25, 115 - 122 (1963)

31) Schön, H. Die Bedeutung der Klärinsuffizienz für die Atherogenese. Münch. Med. Wschr. 105, 2473 - 2478 (1963)

32) Schön, H. Fat and cholesterol metabolism in various forms of hyperlipemia. Acta cardiol. 20, 27 - 29 (1965)

33) Ponnoussamy, Boigne, J.M. Abaza A. L. intêrêt de l'hypertriglycéridémie, comme signe biologique de la maladie athéromateuse. Presse medicale 2131 - 34 (1963)

34) Carlson, L.A. Serum lipids in men with myocarial infarction. Acta med. Scand. 167, 399 - 413 (1960)

35) Albrink, M.J. Meigs J.W. Man. E.B. Serums lipids, hypertension and coronary artery disease. Amer. J. Med. 31, 4 - 23 (1961)

36) Brown, D.F. Kinck,S.H. Doyle, J.F. Serum triglycerides in health and in ischaemic heart disease. New England J. Med. 273, 947 - 52 (1965)

37) Fredrickson, D.S. Levi R.J. Lees, R.S. Fat transport in Lipoproteins - an integrated Approach to Mechanism and Disorders. New England J. Med. 276, Heft 1 - 5 (1967)

38) Sandhofer, F. Sailer, S. Herbst, M. Braunsteiner, H. Untersuchungen über die Postheparin-Lipoproteidlipaseaktivität bei sechs Fällen von essentieller Hyperlipämie. DMW 90, 755 (1965)

39) Ahrens, F.H. Hirsch, I. Oette, K. Forquar, I.W. Stein. Y. Carbohydrate-induced and fat-induced lipemia. Tr. A. Am. Physicians 74, 134, (1961)

40) Schettler, G. Lipids and Lipidoses, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg New York 1967, S. 472 ff.

41) Kannel, W.B. Dawber, T.R. Friedmann, G.D. Glennon, W.E. Mc Namara P.M. Risc factors in Coronary Heart Disease Am. J. Int. Med. 61, 888 (1964)

42) Kannel, W.B. Widmer, L.K. Dawber T.R. "Gerfärdung durch coronare Herzkrankheit". Folgerungen für die Praxis aus 10 Jahren Framingham - Studie Schweiz. med. Wschr. 95, 18 (1965)

43) Schlierf, G. Blutfettspiegel und Arteriosklerose. Monatskurse für die ärztl. Fortbildung, Mai 1967

45) Beiglböck, W. Kopecky, P. Neuere Gesichtspunkte der Arteriosklerose-prophylaxe und -Therapie. Wien, med. Wschr. 14, 89 -95 (1964)

46) Woldow, A. Copez, R.H. Goldberg, H. Effect of multiple injections of heparin on the hyperlipemia of atherosclerosis. Amer. J. Cardiol. 14, 64 - 68 (1964)

47) Schettler, G. Zitiert nach 3

48) Cooperative Study. JAMA 189, 555 (1964)

49) Lovell, R.R.H. and al. Phenprocoumon and Heparin after Myocardial Infarction Arch. Int. Med. 113, 267, (1964)

50) Böttiger, L.E. Carlson, L.A. Engstedt C. Orö, L. The effect of longtime Heparin Treatment in ischaemic heart disease. J. Ath. Res. 5, 253 (1965)

51) Heymann, H. Zur langfristigen Heparinbehandlung der Arteriosklerose und der essentiellen Hyperlipämie. Der Internist 2, 140 (1961)

52) Rodbell, M., Scow R.O. Chylomicron metabolism: uptake and metabolism by perfused adipose tissue. In: Handbook of Physiology, Section 5,Adipose tissue. Edited by A.E. Renold and G.F. Cahill js. 824 p.p. Baltimore Waverly Press Inc. 1965 p. 491

53) Zöllner, N. Eberhagen, D. Untersuchung und Bestimmung der Lipoide im Blut. Bestimmung der freien Fettsäuren, p. 334 Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1965

54) Nikkilä, E.A. Zitiert nach 62

55) Engelberg, H. The effect of a Heparin Antagonist on fasting Serum Triglycerides in Man. J. Ath. Res. 6, 240 - 46 (1966)

56) Boberg, I. The effect of Prolonged Treatment with Heparin on Lipoproteidlipase activity in the blood, J. Ath. Res. 5, 340 -42 (1965)

57) Yoshitoshi, J. Naito, C. Okinawa, H. Usui, M. Mogami, T. Tomono, T. Kinetic studies on metabolism of lipoproteidlipase. I. clin. Invest, 42, 707 (1963)

58) Sailer, S. Sandhofer, F. Braunsteiner, H. Untersuchungen über die Postheparin - Lipoproteidlipaseaktivität bei 6 Fällen von essentieller Hyperlipämie. DMW 90, 755 (1965)

59) Zöllner, N. Frings, H.D. Rothemund, E. über die Klärung lipämischen Plasmas "in vitro". Zschr. f. physiol. Chem. 307, 112 (1957)

60) May, Christiana. Untersuchungen über den Plasma-Heparin-spiegel nach 20 000 I.E. Heparin subcutan. Diss. München (1968)

61) Eiber, H.B., Danishefsky, J. Car, I. Quantitative Studies on the clearing effect of Heparin. JAMA 176, 871 (1961)

62) Geday, E. Lipolysis in plasma after subcutaneous, intramuscular and intravenous Heparin in small doses. Acta. med. Scand. 179, 5, (1966)

63) Lees, R.S., Fredrickson, D.S. Carbohydrate induction of Hyperlipemia in normal man. Clin. Res. 13, 327 (1965)

64) Macdonald, Il The lipid response of joung women to dietary carbohydrates. Amer. J. clin. Nutr. 16, 458 -63 (1965)

65) Porte, D., Williams, R.H. Post-Heparin Lipolytic Activity following Intravenous Heparin S^{35}, Proc. Exper. Biol. Med. N.J. 118, 639 (1965)

66) Zöllner, N., Rothemund, E., Seitz, W. Ein antilipämisches, nicht gerinnungshemmendes Abbauprodukt des Heparins. Klin. Wschr. 32, 1096 (1954)

67) Kuo, P.T., Bassett, D.R. et al.: Lipolytic activity of Post-heparin-Plasma in Hyperlipemia and Hypolipemia. Circ. Res. 16, 221 (1965)

68) Macnab, M., Mac Millian, R.L., Monkhause, F.C. Studies of the influence of diet on Clearing-faktor Lipase and blood lipid levels of a patient with Hyperlipemia. Canad. Med. Ass. 92, 217 (1965)

69) Connor, Williams E. et al. Plasma Lipoproteidlipase after s.c. Heparin Circ. 24, 87 (1961)

70) Furman, R.H., Howard, R.P. Effect of Chronic Heparin administration on serum lipids, lipoproteins, nitrogen and electrolytic balance in normal and heparin-responsive and heparin-unresponsive hyperglyceridemic subjects. Metabolism. 11, 879 (1962)

71) Nestel, P.I., Mashford, M.L. Clin. Sci. 20, 41, (1961)

72) Klein, E., Lever, W.F. Proc. Soc. exp. Biol. N.Y. 95, 565, (1957)

73) siehe in (37) und (67)

74) Schnatz, I. David, Neutral and Alkaline lipolytic activities in human Adipose tissue. BBA 116, 243 (1966)

75) Higgins Joan A., Green, C. Properties of a lipase of Rat liver parenchymal Cells. BBA 144, 211, (1967)

76) Zöllner, N. "Die angeborenen hereditären Störungen im Stoffwechsel der Fette"; in "Moderne Probleme der Pädeatrie" Verlag S. Karger, Basel-New York 1958, p. 378

77) Schlierf, G. Der Blutfettspiegel, Monatskurse für ärztl. Fortbildung 16, 126, (1966)

78) Cramér, K., Paulin, S., Werkö, L.: Coronary Angiographyc Findings in Correlation with Age, Body weight, Blood Pressure, Serum-Lipids and Smoking Habits. Circulation 33, 888, (1966)

79) Eggstein, M. in Lipoproteidlipase Symposium, Wien 1962 S. Karger Basel - New York 1963

80) Jones, P., Plotkon, G.R. Arkny, R.A. Lipolytic activity in patients with Diabetes mellitus, with and withwut Haperlipemia, Diabetes 15, 565 (1966)

81) Engelberg, H. Quantitative studies of triglyceride lipoysis after heparin administration Circ. Res. 6, 266 (1964)

82) Boberg, J., Carlson, L.A. Clin. chim. Acta 10, 421 (1964)

83) Eiber, H.B., Payza, A.N. Goldberg, E. Studies on Plasma.Clearing-factor II Substrates BBA, 116, 256 (1966)

84) Condon, R.E., Tobias, H., Datta, D. The liver and postheparinplasma lipolytic activity in dog and man. I. clin. Inv. 44, 860 (1965)

85) König, E., Seitz, W., Zöllner, N. Die Hemmung der Lipämieklärungsreaktion durch Heparin, Methode zur Bestimmung von Heparin. Hoppe-Seylers Zeitschr. physiol. Chem. 341, 177, (1959)

86) Zöllner, N., Frings, H.D. Zschr. exper. Med. 127, 578 (1956)

87) Riley, I.F., White, R.P. zitiert nach Gaspar, H.: Physiologische Bedeutung und pharmakologische Wirkungen des Heparins. F.K. Schattauer-Verlag Stuttgart 1965

88) Graham, D.M. Lyon, T.P., Gofman, J.W., Jones, H.B. Yankley, A., Simonton, J. and White, S.: Circulation 4, 666 (1951)

89) Felts, I.M. Mayes, P.A. Nature 214, 620 (1967)

90) Boberg, I., Carlson, L.A. Normall, L. life sci. 3, 10, 11 (1964)

91) zitiert nach Shippey, I.E. Schneider, V.S., Shipp, I.C. Fried, Melvin in Enzymologia Acta Biocatalytica 6, 326 (1966)

92) Björntrop, P., Forman, RH6, 326, 1966 Am. J. Physiol. 203, 323, (1962)

93) Day, A. J. Wilkinson, G.K. Gilmore, H.H. Schwartz C.I. Circulation 16, 72, (1958)

94) Seifter, I., Baeder D.H. Proc. soc. exp. Biol. (N.Y.) 86, 709, (1954)

95) Seifter, I., Baeder D.H. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 89, 511, (1955)

96) Day, A.J., Wilkinson, G.K. Circulation 16, 76, (1958)

97) Hollet, Charlotte, R. An Inhibitor of the Lipolytic reaktion for post-heparin plasma of normal Dog BBA 98, 53 - 60 (1965)

BBA 98, 61 - 65 (1965)

99) Day, A.J., Wilkinson, G.K. Circulation 16, 76, (1958)

100) zitiert nach (14)

Tabelle I

Lipolytische Aktivität in μval/ml/Min. nach subcutaner Applikation von 20 000 I.E. Heparin über einen Zeitraum von 48 Stunden.

	H.F.	K.	Sch.	V.	S.K.	Ko.	H.	H.I.*	K.*	Z.	Mittelwerte
Nullwert						0,00918	0,00918		0,00417	0,0066	0,0083
15 Min.						0,085				0,055	0,007
1 Std.						0,158	0,135		0,0567	0,126	0,139
2 "	0,1	0,14			0,1215			0,103			0,120
3 "	0,0884										
4 "	0,0616	0,11			0,06						0,077
6 "	0,055	0,11			0,05			0,053			0,073
8 "	0,04	0,0934			0,0217			0,09			0,0517
10 "	0,055	0,0894			0,0217			0,1			0,0553
12 "		0,0467	0,0734	0,06	0,0566	0,056	0,0585	0,0918	0,053	0,111	0,066
14 "			0,048	0,052							0,050
16 "			0,043	0,06							0,051
18 "			0,035	0,0417							0,038
20 "			0,025	0,033							0,029
22 "			0,016	0,008							0,012
24 "			0,008			0,0133	0,0267		0,01835	0,0216	0,0174
30 "							0,0133		0,0158	0,0133	0,0133
36 "						0,00918	0,013		0,0225	0,00916	0,01044
48 "						0,0066			0,0175	0,00834	0,00747

Pat. H.I.* erhielt Depot Liquemin appliziert.

Pat. K.* war arteriosklerotisch und wurde fettreich ernährt.

Tabelle II

i.v.-Applikation von 20 000 I.E. Heparin und Bestimmung der lipolytischen Aktivität µval/ml/Min. über 8 Stunden

Zeit p.i.	KG	10'	30'	45'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	300'	360'	420'	480'
1. P.W.K.	80	0,367	0,417	0,455	0,427	0,438	0,37	0,275	0,222	0,20	0,1365				
2. P.P.H.	83	0,355		0,452	0,403						0,173	0,11	0,0267	0,0217	0,013
3. P.Sch.	72	0,5		0,652							0,232	0,181	0,1105	0,07	0,0568

Tabelle III

Lipolytische Aktivität (µval/ml/Min.) nach subcutaner Applikation von 10 000 I.E. Heparin über zwei Stunden.

Zeit	5'	10'	15'	20'	30'	40'	45'	60'	75'	90'	120'
1. P.M.W.	0,0333	0,040	0,0782	0,083		0,1016					
2. P.M.K.					0,0966		0,0968	0,1025	0,1250		0,1165
3. P.W.		0,055		0,0784	0,090						
4. P.E.G. 20000 I.E.		0,045		0,0667			0,0968	0,0934		0,1035	0,1216

Tabelle IV

Lipolytische Aktivität (µval/ml/Min.) nach einer subcutanen Dosis von 2 000 I.E. Heparin

Zeit	10'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'
1. P. F.S.	0,01		0,02	0,03	0,05	0,03	0,023	-	-
2. P. G.K.		0,0183	0,0133		0,0383	0,0217	0,0267	0,02	0,005

Tabelle V

Lipolytische Aktivität nach 1 000 bzw. 1 500 I.E. Heparin i.v. zum Nachweis einer Erschöpfung oder Hemmung des Enzymsystems. Eichwert: vor Versuchsbeginn.

Testwert: 36 Stunden nach 20 000 I.E. Heparin subcutan

Pat.	KG	Eichwert µval/ml/Min.	Testwert µval/ml/Min.
Pat. 1 H. 1000 I.E.	70 kg	0,211	0,1465
Pat. 2 M. 1000 I.E.	70 kg	0,3	0,265
Pat. 3 G. 1000 I.E.	59 kg	0,397	0,353
Pat. 4Sch. 1000 I.E.	72 kg	0,235	0,1655
Pat. 5 W. 1500 I.E.	86 kg	0,36	0,281

Tabelle VI:

Einfluß der Substratmenge auf die Freisetzung von FFS im Inkubationsgemisch (μval/ml/Min.). Es wurde bei der Berechnung der Substratmenge im Intralipid nur das Sojabohnenöl, nicht das Lecithin, berücksichtigt. Die Substratkonzentrationen im Inkubationsgemisch betragen 150 mg, 225 mg, 300 mg. Es wurde Postheparinplasma 10 Min. nach Applikation von 1000 I.E. Heparin verwendet.

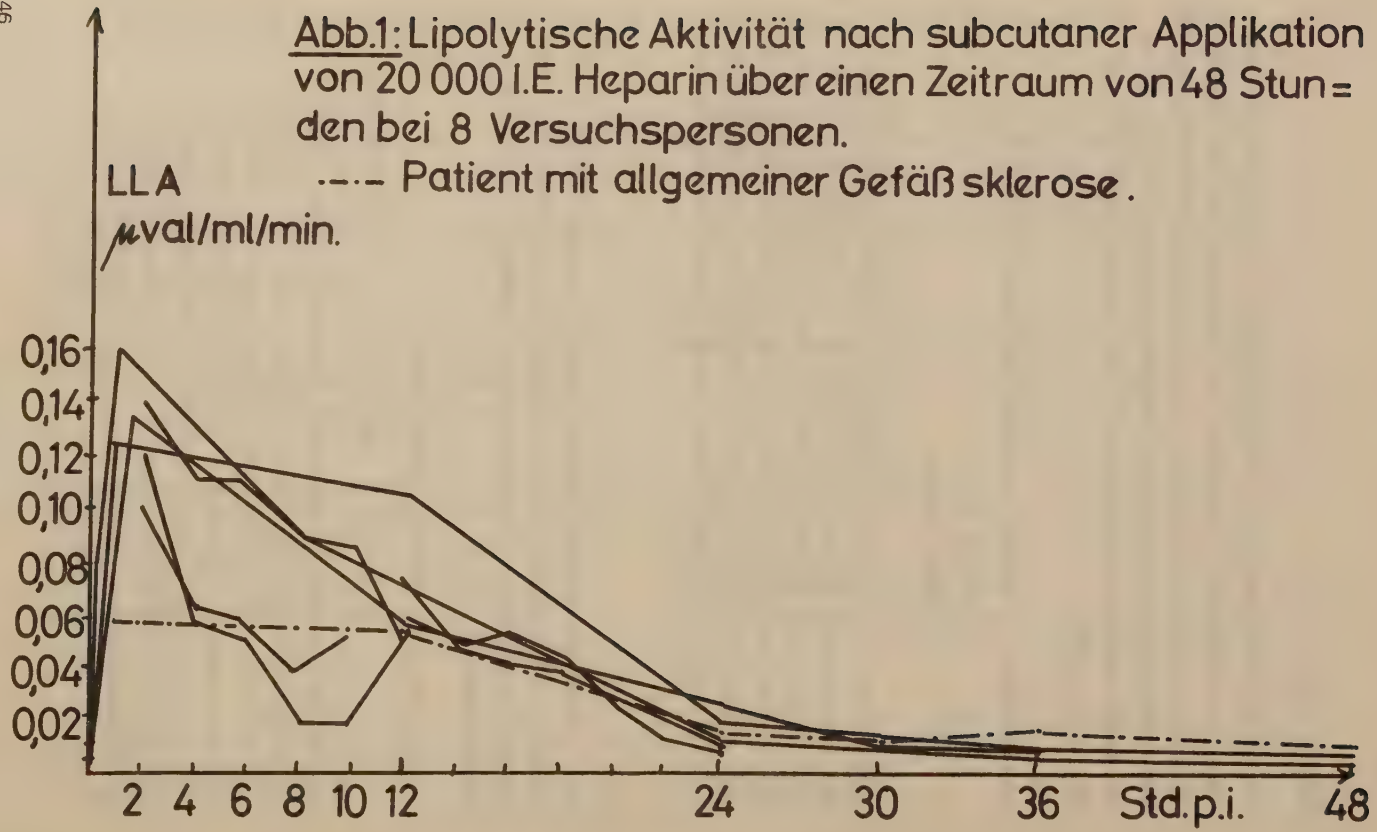
Inkubationszeit	FFS bei unterschiedlichen Substratmengen					
	Pat. U.					
	Substratmenge					
	150 mg	225 mg	300 mg	150 mg	225 mg	300 mg
15'	2,2	5,10	5,05	2,95	5,2	4,7
30'	3,9	10,65	10,3	6,5	9,7	10,3
45'	6,05	15,5	14,8	9,0	14,2	16,3
60'	7,75		18,9	12,3		18,8
75'	9,50	22,9	22,1	15,1	24,10	22,5

Tabelle VII:

Doppelbestimmung der lipolytischen Aktivität (μval/ml/Min.) bei Versuchsperson L. Es wurden 1000 I.E. Heparin i.v. appliziert, und 10 Min. danach Plasma gewonnen. Außerdem wurde bei dieser V.P. die Spontanaktivität bestimmt.

Inkubationszeit	freigesetzte Fettsäuren		
	Best. I	Best. II	Spontanaktivität
15'	5,8	5,8	
30'	11,3	11,05	
45'	16,8	16,55	
60'	21,1	20,5	0,7
75'	26,1	26,05	
2 Std.			1,4
3 Std.			1,9
4 Std.			2,3

Abb.1: Lipolytische Aktivität nach subcutaner Applikation von 20 000 I.E. Heparin über einen Zeitraum von 48 Stunden bei 8 Versuchspersonen.
-·-·- Patient mit allgemeiner Gefäßsklerose.



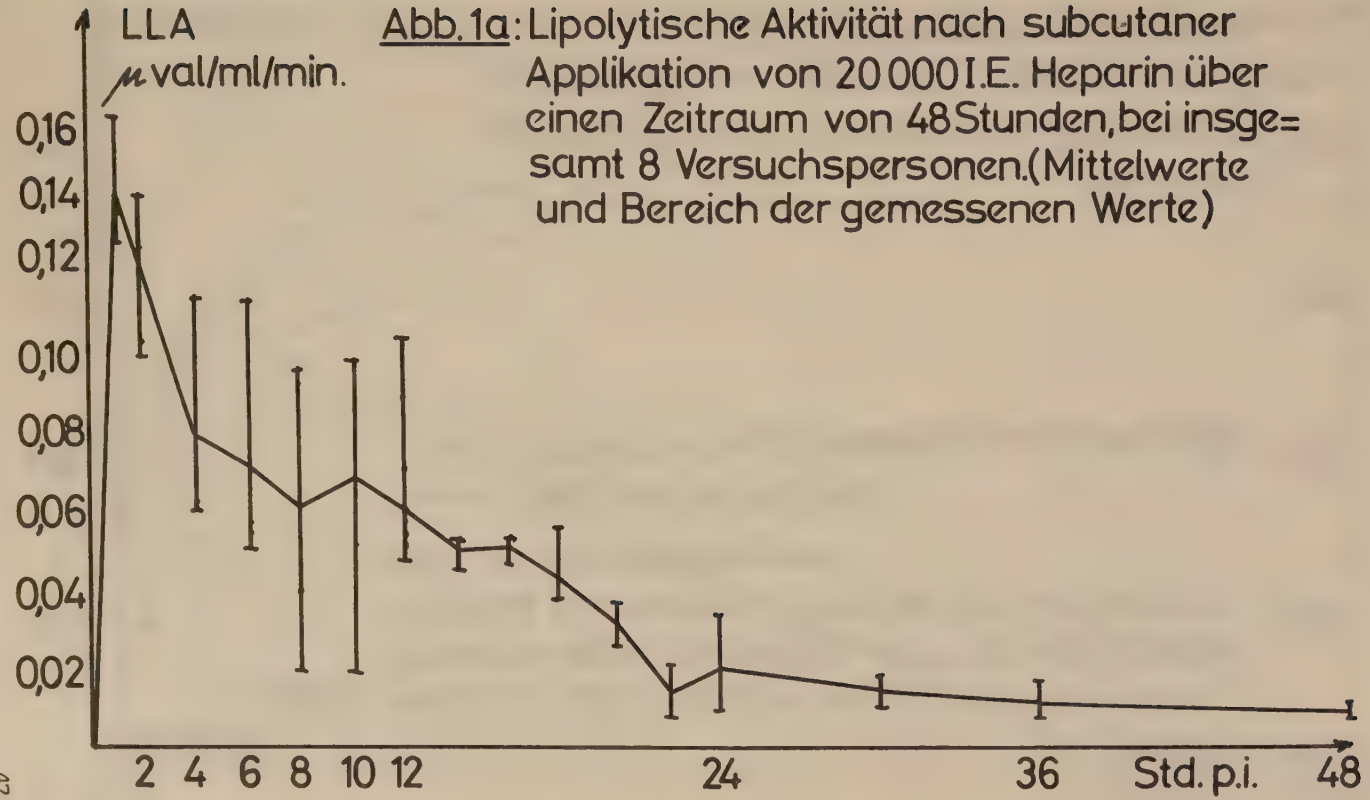


Abb. 1a: Lipolytische Aktivität nach subcutaner Applikation von 20 000 I.E. Heparin über einen Zeitraum von 48 Stunden, bei insgesamt 8 Versuchspersonen. (Mittelwerte und Bereich der gemessenen Werte)

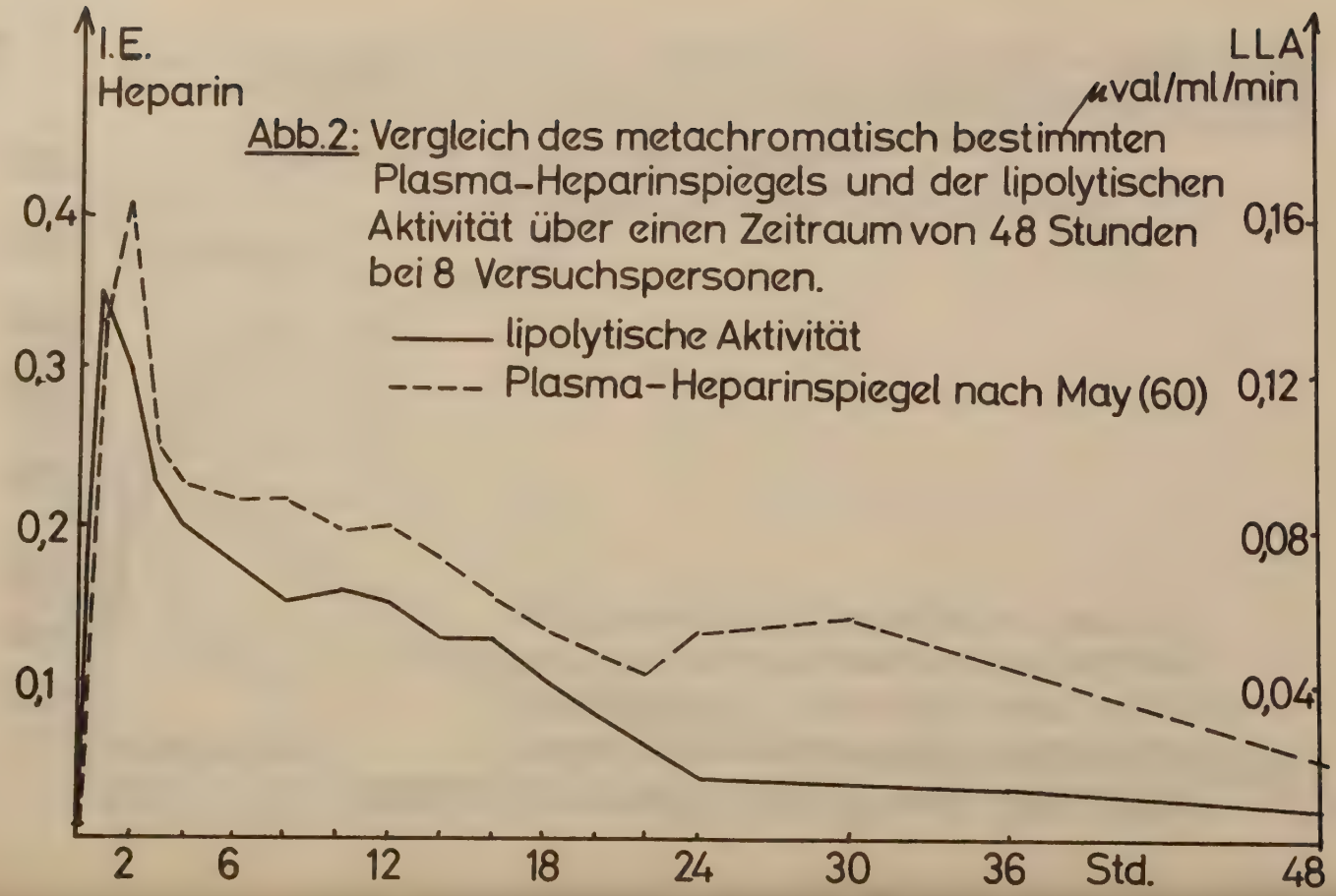


Abb.2: Vergleich des metachromatisch bestimmten Plasma-Heparinspiegels und der lipolytischen Aktivität über einen Zeitraum von 48 Stunden bei 8 Versuchspersonen.

—— lipolytische Aktivität

---- Plasma-Heparinspiegel nach May (60)

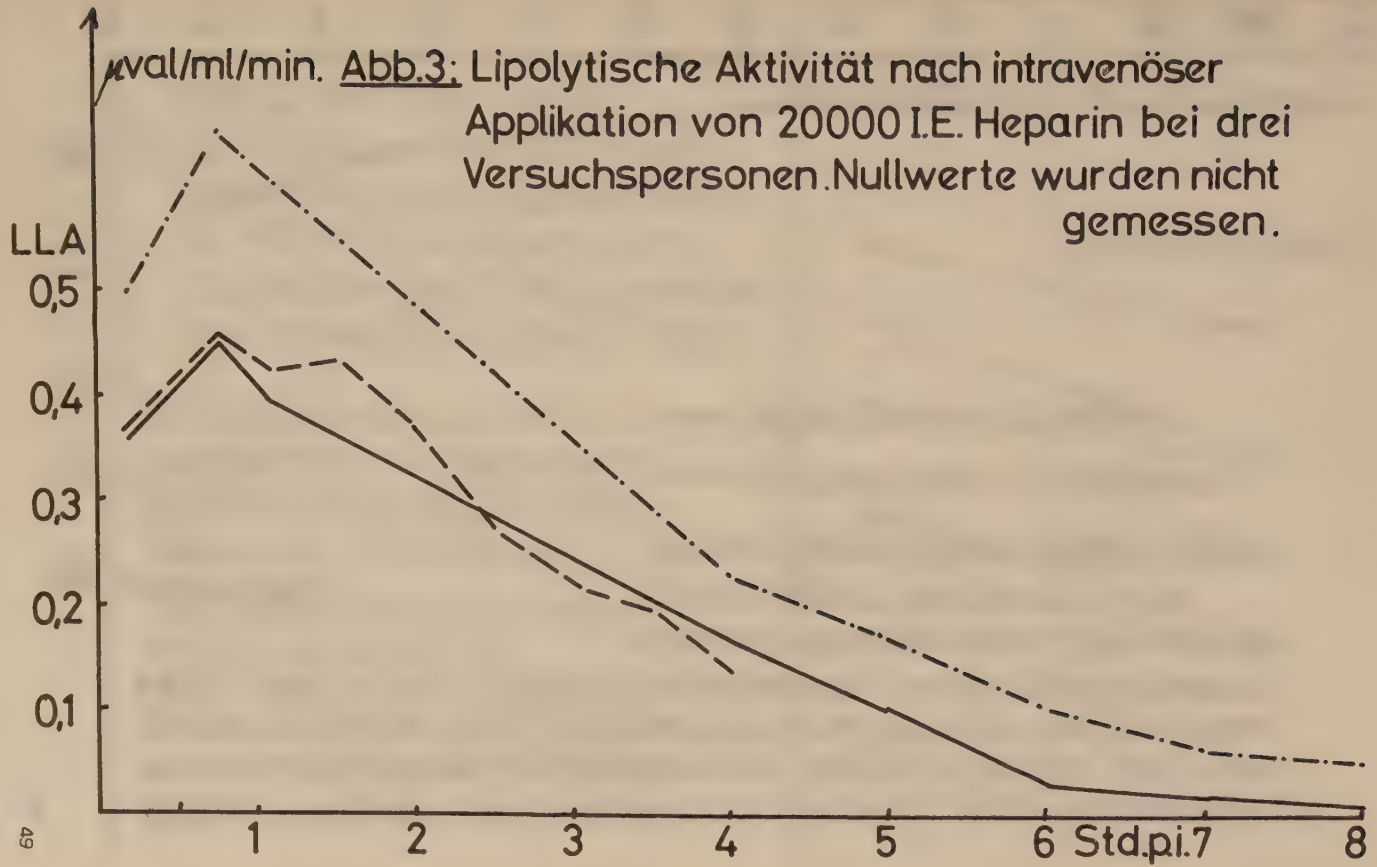


Abb.3: Lipolytische Aktivität nach intravenöser Applikation von 20000 I.E. Heparin bei drei Versuchspersonen. Nullwerte wurden nicht gemessen.

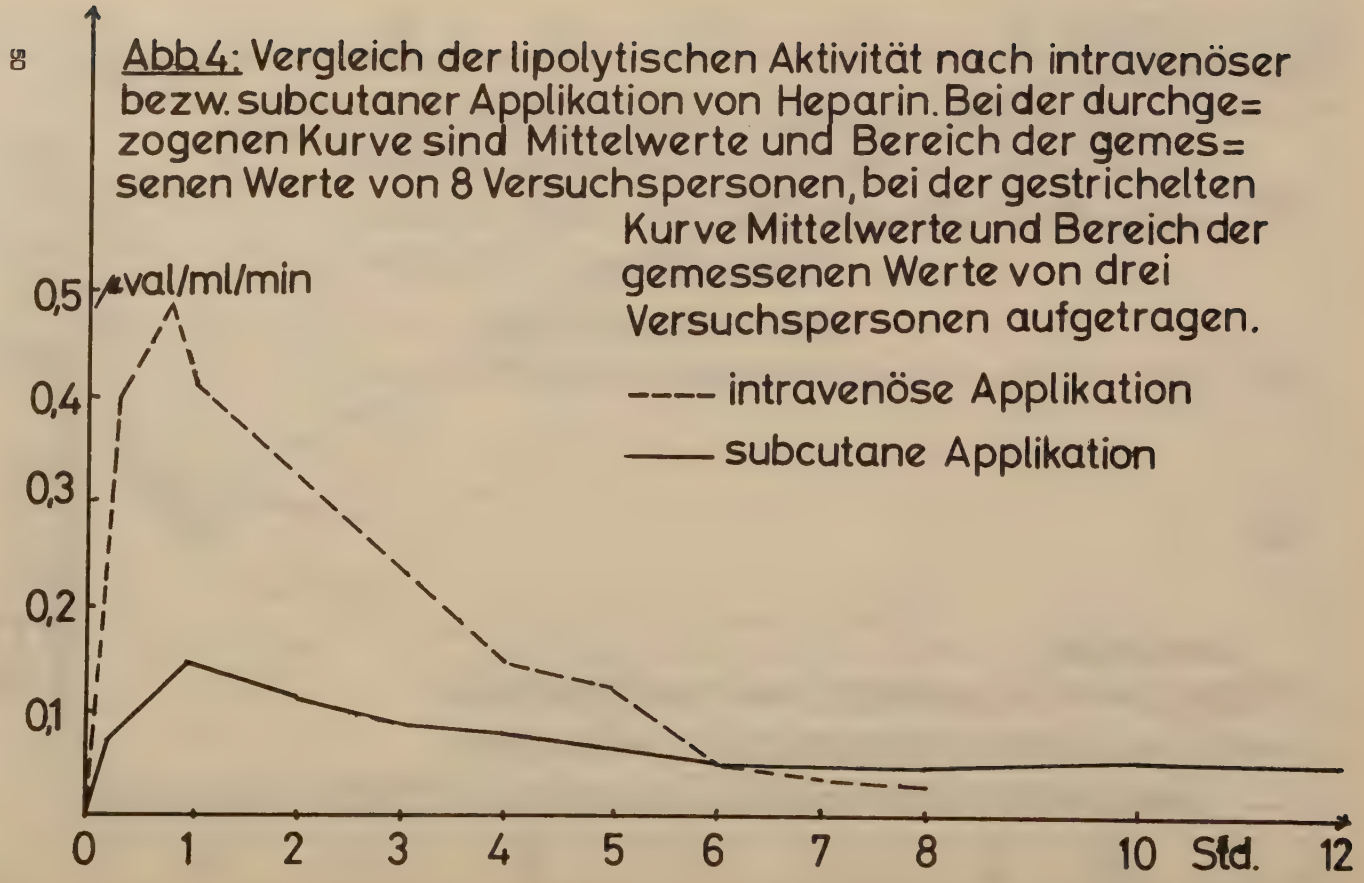


Abb.4: Vergleich der lipolytischen Aktivität nach intravenöser bezw. subcutaner Applikation von Heparin. Bei der durchgezogenen Kurve sind Mittelwerte und Bereich der gemessenen Werte von 8 Versuchspersonen, bei der gestrichelten Kurve Mittelwerte und Bereich der gemessenen Werte von drei Versuchspersonen aufgetragen.
---- intravenöse Applikation
—— subcutane Applikation
val/ml/min
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
1
2
3
4
5
6
7
8
10
Std.
12

Abb.5: Bestimmung der lipolytischen Aktivität nach Applikation von 1000 bezw. 1500 I.E. HEPARIN i.v., vor und nach Applikation einer Heparindosis von 20000 I.E. s.c., bei 5 Pat.

Die Eichwerte wurden vor Versuchsbeginn abgenommen, die Testwerte 36 Std. nach 20000 I.E. HEPARIN s.c.

Die Testwerte sind in allen Fällen vermindert.

—— 1000 I.E. HEPARIN i.v.

– – – – 1500 I.E. HEPARIN i.v.

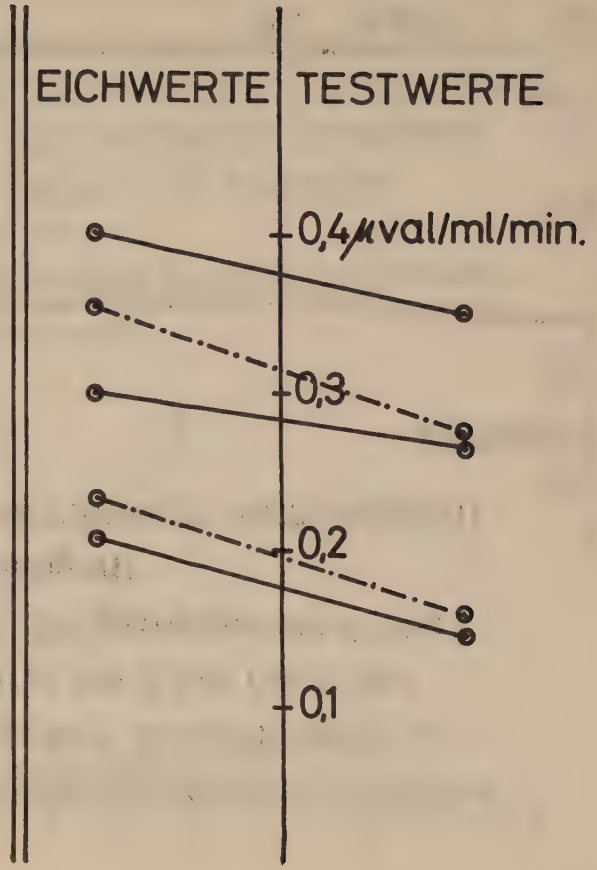


Abb.6: Anstieg des metachromatisch bestimmten Plasma= Heparinspiegels und der lipolytischen Aktivität nach s.c. Applikation von 10000 I.E. Heparin bis 2 Std nach der Injektion. (Mittelwerte und Bereich der gemessenen Werte)

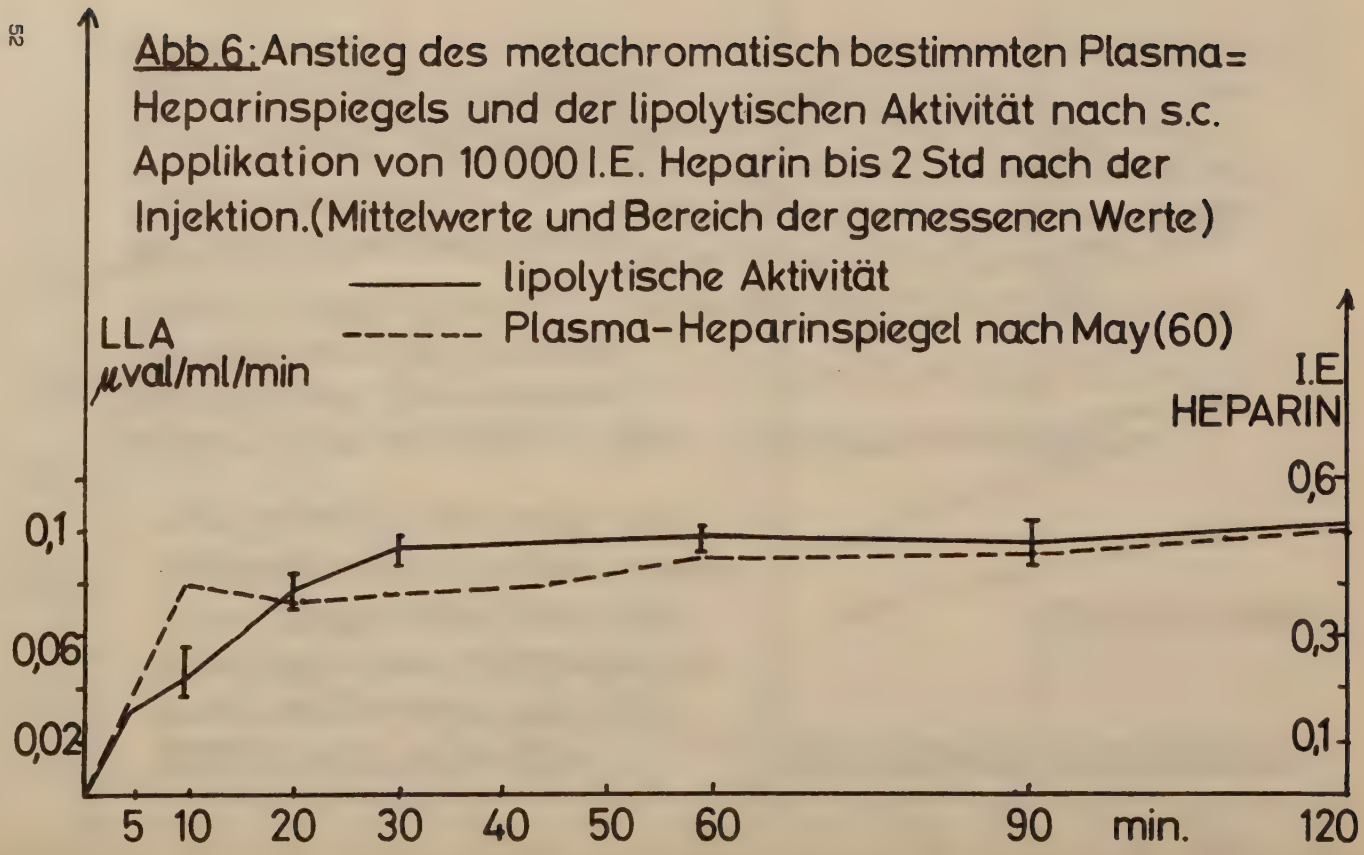
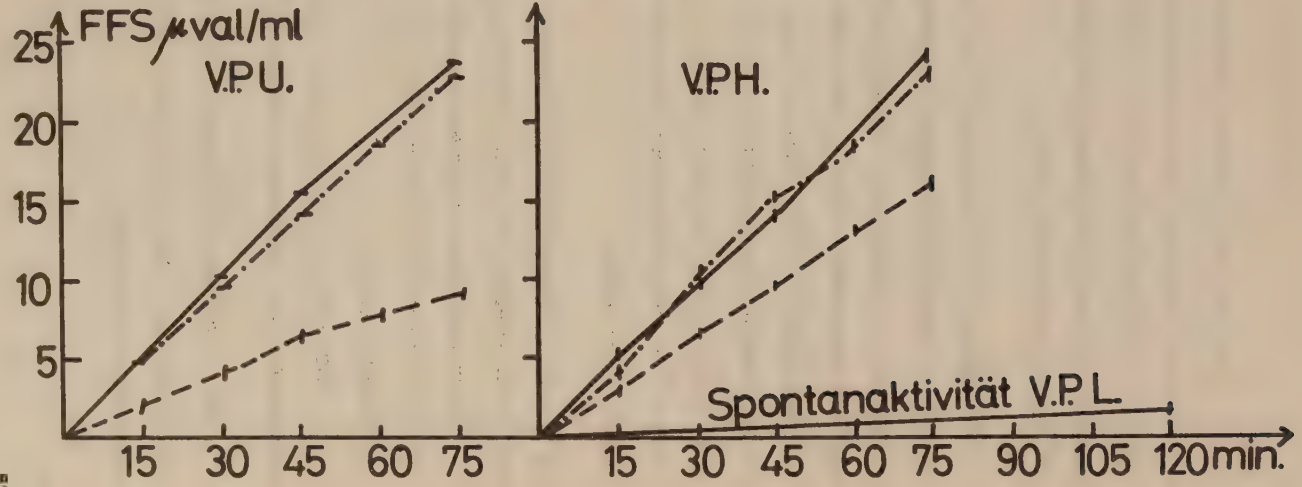


Abb.7: Einfluss der Substratmenge auf die Freisetzung von FFS im Inkubationsgemisch. Es wurde bei der Berechnung der Substratmenge im Intralipid nur das Sojabohnenöl, nicht das Lecithin, berücksichtigt. Die Substratkonzentrationen im Inkubationsgemisch betragen: 150 mg - - - - -, 225 mg ———, 300 mg -·-·-·- . Bei einer Versuchspers. erfolgte auch die Messung der Spontanaktivität mit 225 mg Substrat. V.P.=Versuchsperson



L E B E N S L A U F

Am 23. 8. 1942 bin ich als Sohn des Müllers Otto Ladenburger und seiner Ehefrau Maria, geb. Mayer, in Heimatsmühle, Gemeinde Hofen, Kreis Aalen, geboren. Von 1949 bis 1953 besuchte ich die Volksschule in Hofen sodann wechselte ich über auf das humanistische Gymnasium Ellwangen/Jagst, wo ich 1962 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommersemester 1962 immatrikulierte ich mich an der medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg. Im Sommersemester 1963 bestand ich das Vorphysikum, im Wintersemester 1964/65 das Physikum. Das klinische Studium begann im Sommersemester 1965 an der Universität Kiel; ich setzte es an den Universitäten in München und Wien fort.
Von Juni 1966 bis August 1967 führte ich an der med. Poliklinik der Universität München den experimentellen Teil meiner Dissertation durch. Am 21. Juni 1968 bestand ich an der Universität München die ärztliche Prüfung mit gutem Erfolg.

Vom 1. August 1968 bis 31. März 1969 war ich als Medizinalassistent an der II med. Abteilung des Städt. Krankenhauses München-Harlaching beschäftigt. Anschließend war ich als Medizinalassistent je 4 Monate auf der chirurgischen und gynäkologischen Abteilung des Klinikums Rechts der Isar der TH München tätig.
Am 1.1. 1970 erhielt ich die Approbation; anschließend arbeitete ich als Assistenz-Arzt auf der inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Aalen.

Am 6. Okt. 1970 wurde ich als Wehrpflichtiger zur Bundeswehr einberufen und bin seit dem 2. Nov. 1970 auf der inneren Abteilung des Bundeswehrkrankenhauses Wildbad tätig.

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 51
Telefon 295681

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 51
Telefon 295681